Contrôle de la qualité effectué, en 1985, sur les préparations à base de *Bacillus thuringiensis* utilisées lors des pulvérisations aériennes contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette

Jean Cabana, microbiologiste

Service des études environnementales

GOUVERNEMENT DU QUÉBEC
Ministère de l'Énergie et des Ressources
Direction de la conservation

Québec, Octobre 1986

67

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS ii

INTRODUCTION 1

1. Plan et méthode d'échantillonnage 2

    1.1 Plan d'échantillonnage 2
    1.2 Méthode d'échantillonnage 2

2. Echantillonnage des concentrés 2

3. Méthode analytique 3

    3.1 Recherche de pathogènes 3
        3.1.1 Recherche effectuée par notre laboratoire 3
        3.1.2 Recherche effectuée par l'Institut Armand Frappier 3

    3.2 La recherche de formes végétatives 6

    3.3 La détermination de la potentilité insecticide 6

4. Résultats obtenus 6

    4.1 La recherche de pathogènes 6
        4.1.1 Recherche effectuée par notre laboratoire 6
        4.1.2 Recherche effectuée par l'Institut Armand Frappier 8

    4.2 La recherche de formes végétatives 8

    4.3 La détermination de la potentialité insecticide 8

5. Conclusion 11

6. BIBLIOGRAPHIE 12

ANNEXE 1 13

ANNEXE 2 14

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Mmes M. Dubé, A. Michaud et M. Pelletier et MM. Y. Simpson et D. Turgeon pour leur soutien technique et les efforts déployés pour la réalisation de ce contrôle de la qualité.

INTRODUCTION

Dans le cadre de son 17e programme de pulvérisations aériennes d'insecticides pour lutter contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette, le ministère de l'Énergie et des Ressources traitait, en 1986, 18 160 hectares de forêt à l'aide de préparations à base de Bacillus thuringiensis (B.t.).

Provenant des achats effectués l'an dernier, les préparations utilisées cette année, qui ont déjà été échantillonnées et analysées en 1985, ont fait l'objet d'un second contrôle de la qualité moins élaboré qu'en 1985.

En 1986, le contrôle de la qualité s'est porté sur les points suivants: la recherche de pathogènes, la recherche de formes végétatives de B.t. et la détermination de la potentialité insecticide.

1. PLAN ET MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE

En 1986, tous les produits échantillonnés étaient contenus dans des barils.

1.1 Plan d'échantillonnage

En 1986, nous avons utilisé le même plan d'échantillonnage qu'en 1985. Ce plan repose sur la quantité de barils contenus dans chaque lot. Il est reproduit au tableau 1 ci-après.

Tableau 1 - Plan d'échantillonnage

Nombre de barils par lot	Quantité de barils pour l'échantillonnage
1 - 30	4
31 - 60	6
61 - 90	8
91 - 120	10

1.2 Méthode d'échantillonnage

Les produits échantillonnés cette année furent le Thuricide 48 LV (1985) et le Futura XLV (1985). Les numéros des lots se retrouvent à l'annexe 1.

La technique d'échantillonnage fut la même que celle utilisée en 1985[1].

2. ÉCHANTILLONNAGE DES CONCENTRÉS

Le tableau 2 nous indique la quantité d'échantillons prélevés pour chacun des produits, chaque lot ayant été échantillonné selon le plan d'échantillonnage indiqué.

Tableau 2 - Nombre d'échantillons prélevés par produit.

Produit	Nombre de barils	Nombre de lots	Nombre de barils échantillonnés
Futura XLV (1985)	4	3	3
Thuricide 48 LV (1985)	270	44	74

3. MÉTHODOLOGIE ANALYTIQUE

3.1 Recherche de pathogènes

3.1.1 Recherche effectuée par notre laboratoire

Tous les échantillons de chacun des lots furent utilisés pour rechercher la présence de micro-organismes pathogènes.

Chacun de ces échantillons fut soumis aux schémas de recherche indiqués aux tableaux 3 et 4 ci-après.

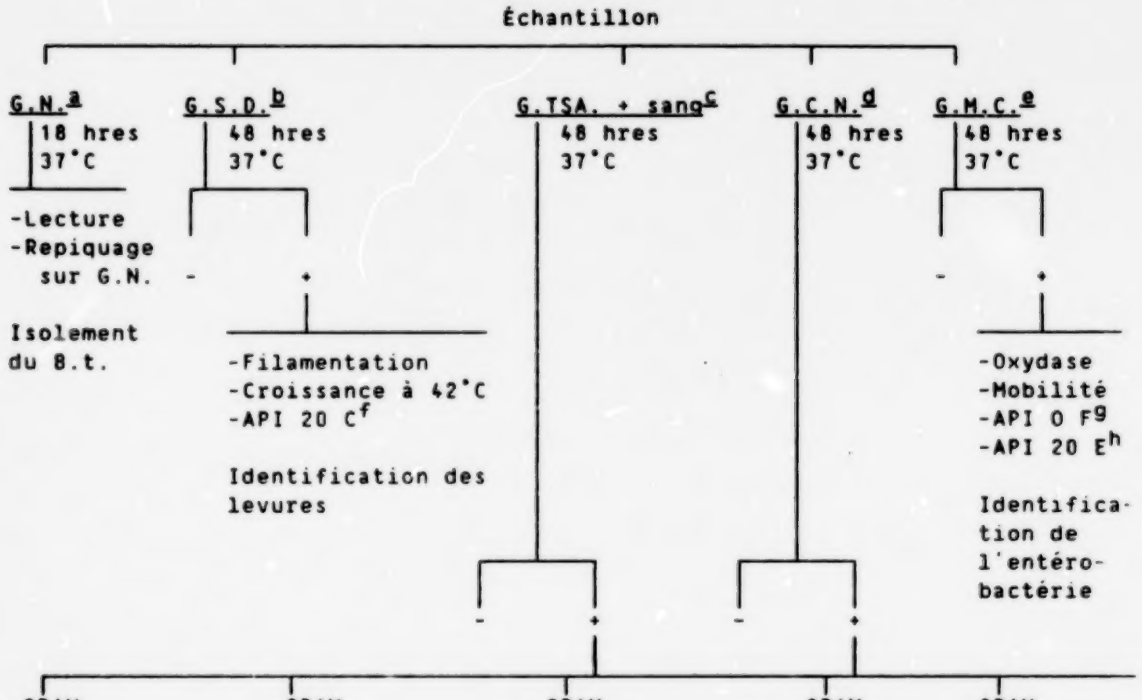
3.1.2 Recherche effectuée par l'Institut Armand Frappier

Une série de 15 échantillons (voir tableau 5 ci-après) fut envoyée à l'Institut Armand Frappier en vue d'obtenir une expertise indépendante sur la présence possible de contaminants pathogènes dans ces préparations. Leur méthodologie d'analyse se retrouve à l'annexe 2.

Tableau 5 - Échantillons envoyés à l'I.A.F.

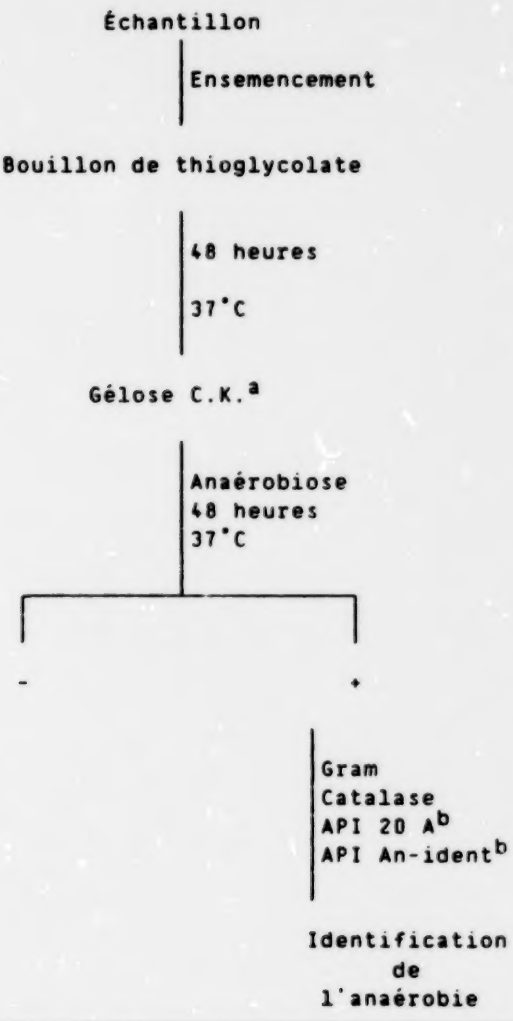
Produit	Nombre d'échantillons
Futura XLV (1985)	1
Thuricide 48 LV (1985)	14

Tableau 3 - Schéma d'identification utilisé (aérobiose)



a. G.N.: Gélose nutritive.
b. G.S.D.: Gélose Sabouraud Dextrose.
c. G.TSA. + Sang: Gélose tryptosée au sang.
d. G.C.N.: Gélose Columbia et acide nalidixique.
e. G.M.C.: Gélose de Mac Conkey.
f. API 20 C: Identification de levures d'intérêt médical.
g. API O F: Étude du métabolisme du glucose par les bactéries à Gram négatif.
h. API 20 E: Identification des entérobactéries.
i. API 20 S: Identification des streptocoques et Aerococcus.
j. API 20 GP: Identification des staphyllocoques.
k. I.A.F.: Institut Armand Frappier.
l. API Rapid Strept: Identification des streptocoques.

Tableau 4 - Schéma d'identification utilisé (anaérobiose)



a. C.K.: Gélose Columbia et Kanamycine.
b. API 20 A: Identification des bactéries anaérobies.
b. API An-ident: " " " " .

3.2 La recherche de formes végétatives

Les préparations à base de B.t. mises sur le marché contiennent des spores, des cristaux et un certain nombre de substance inertes de nature variable.

La présence de formes végétatives (bâtonnets) de B.t. pourrait indiquer que la fermentation n'a pas été menée à terme à l'usine ou que des spores ont germé dans le produit durant l'entreposage.

Un examen microscopique fut effectué à l'aide d'un microscope Leitz Laborlux K, sous immersion, à un grossissement de 1 000 afin de déceler la présence de formes végétatives dans chacun des échantillons.

3.3 La détermination de la potentialité insecticide

La détermination de la potentialité insecticide a été effectuée en utilisant la technique standard telle que déjà présentée en 1985[2].

4. RÉSULTATS OBTENUS

4.1 Recherche de pathogènes

4.1.1 Recherche effectuée par notre laboratoire

Nous n'avons pu mettre en évidence la présence de pathogènes.

Cependant divers contaminants ont été retrouvés dans ces préparations et le tableau 5, ci-après, nous en indique l'espèce et le pourcentage des lots qui les contenaient.

Tableau 5 - Contaminants retrouvés dans les diverses préparations

Espèce	Futura XLV 1985	Thur. 48 LV 1985
Aerococcus	0*	20
Bacillus spp.	100	70
Clostridium sporogenes	0	4
Lactobacillus	0	75
Streptococcus		
- acidominimus	0	64
- faecium	0	2
- mitis	0	7
- non enterocoque	0	61
- sanguis I	0	41
- uberis	0	2
- viridans	0	25

* Les chiffres indiquent le pourcentage de lots du produit ayant cette contamination.

La lecture de ce tableau nous révèle que:

1- Aucun contaminant autre que des Bacilli spp. n'a poussé sur les milieux de culture lors de l'analyse des échantillons de Futura XLV.

2- Le Thuricide 48 LV (1985) est aussi contaminé que l'an dernier, les principales bactéries rencontrées appartenant aux genres Bacillus, Lactobacillus et Streptococcus.

4.1.2 Recherche effectuée par l'Institut Armand Frappier

Les résultats de leur recherche se retrouvent à l'Annexe 2. Leur conclusion nous indique qu'ils n'ont pu mettre en évidence de micro-organismes pathogènes.

4.2 La recherche de formes végétatives

Tous les échantillons ont été soumis à cette recherche. Dans tous les cas, nous n'avons pu mettre en évidence de formes végétatives de Bacillus thuringiensis.

4.3 La détermination de la potentialité insecticide

Les résultats se retrouvent aux tableaux 6 et 7 ci-après.

Les valeurs indiquées pour la potentialité insecticide de chacun des lots sont des moyennes obtenues à partir d'essais réalisés sur chacun des échantillons de chacun des lots.

Ainsi pour un échantillon donné, les valeurs de trois (3) essais valables servent à établir la valeur de la potentialité insecticide, l'écart-type et le coefficient de variation.

Dans les cas où un seul échantillon a été prélevé par lot (cas de 30 des 47 lots en 1986), la potentialité ainsi déterminée devient aussi celle du lot d'où provient l'échantillon.

Dans les autres cas (17 lots sur 47 en 1986), la potentialité insecticide est établie en utilisant tous les échantillons d'un lot donné. Ainsi, si on a prélevé 4 échantillons d'un lot et que chacun des échantillons a subi 3 essais valables, la potentialité déterminée sera la moyenne des 12 (4 x 3) potentialités déterminées. Donc dans le cas de ce lot, 12 essais auront servi à déterminer la potentialité insecticide, l'écart-type et le coefficient de variation.

Les résultats indiquent que les lots 1356 de Thuricide 48 LV et 5360 de Futura XLV n'avaient pas la potentialité requise (soit 12000 - (12000 - 20%) = 9600 UI/mg).

Dans le cas du Thuricide 48 LV, le lot 1356 dont la potentialité a été estimée à 8296 ± 866 UI/mg avait en 1985, une potentialité estimée à 9218 ± 1352 UI/mg. Ce lot semble avoir perdu de sa valeur insecticide durant son entreposage.

Le lot 5360 de Futura XLV a, approximativement, la même potentialité (8120 UI/mg) qu'en 1985 (8150 UI/mg). Ce qui semble indiquer que ce lot avait, depuis le début, une potentialité inférieure à celle qui est acceptable.

Il faut enfin remarquer la stabilité générale du Thuricide 48 LV qui après un an de conservation possède toujours une bonne potentialité.

Tableau 6. Potentialité insecticide du Thuricide-48LV (1985) échantillonné en 1986.*

Numéro de lot	Potentialité insecticide en U.I./mg.	Nombre d'essais valables	Coefficient de variation en %**
1291	11553 ± 648	3	6,0
1298	11997 ± 1228	3	10,0
1310	12091 ± 1819	3	16,3
1316	11310 ± 1862	6	17,0
1322	11566 ± 1561	3	14,6
1327	10240 ± 1198	3	12,7
1328	11070 ± 1587	3	15,5
1335	11759 ± 777	3	7,2
1341	11010 ± 1271	3	12,5
1348	10770 ± 1027	3	10,3
1350	12245 ± 807	3	7,0
1353	9713 ± 1561	3	17,4
1354	11877 ± 1194	6	10,4
1355	13148 ± 1857	6	14,7
1356	8296 ± 866	12	10,6
1357	11569 ± 1522	6	13,7
1358	13030 ± 1836	3	15,3
1359	12083 ± 1574	6	13,4
1360	11776 ± 1247	3	11,3
1363	9885 ± 1118	3	12,3
1371	12586 ± 1740	3	15,0
1372	12385 ± 697	3	6,0
1374	11045 ± 1318	3	13,0
1375	11844 ± 717	3	6,6
1383	11623 ± 1884	3	17,5
5092	9689 ± 1071	3	12,0
5101	10326 ± 1905	3	19,5
5106	11315 ± 1333	6	12,8
50771-R	10634 ± 1192	3	12,0
50961 R	11530 ± 2162	3	18,8
51042 R	10534 ± 1503	3	15,5
51043 R	11255 ± 1483	3	14,3
8501	11277 ± 1764	12	16,0
8502	10808 ± 1154	18	10,8
8503	11114 ± 1388	6	13,0
8504	11312 ± 1974	3	19,0
8506	14655 ± 2595	3	18,8
8507	13362 ± 1386	12	10,6
8508	12310 ± 1698	12	14,0
8512	9984 ± 504	3	5,5
8517	9631 ± 389	3	4,4
8530	11985 ± 1530	12	13,0
Non connu	11002 ± 1264	3	12,4
Trans	8904 ± 1212	12	14,0

* La potentialité insecticide garantie par l'étiquette est de 12000 UI/mg

** Le coefficient de variation (c.v.) indiqué est le coefficient de variation corrigé (c.v.*) qui se calcule ainsi: $c.v.^* = (1 + \frac{1}{4(n)})\ c.v.$

Tableau 7. Potentialité insecticide du Futura XLV (1985) échantillonné en 1986.*

Numéro de lot	Potentialité insecticide en U.I./mg.	Nombre d'essais valables	Coefficient de variation en %**
5359	9670 ± 674	3	7,6
5360	8120 ± 538	3	7,0
5363	9188 ± 1107	3	13,0

* La potentialité insecticide garantie par l'étiquette est de 12000 UI/mg.
** Le coefficient de variation indiqué est le coefficient de variation corrigé.

5. CONCLUSION

Le contrôle de la qualité effectué en 1986 sur les préparations à base de B.t. révèle que:

1- Il n'y avait pas de contaminants pathogènes dans ces préparations.

2- Aucune forme végétative de B.t. n'a été décelée.

3- La presque totalité (98%) des lots de Thuricide de 48 LV avait une potentialité insecticide acceptable, alors que, pour le Futura XLV, deux lots sur trois se situaient au-dessus de la limite acceptable.

6. BIBLIOGRAPHIE

1. Cabana, J., Pelletier, M. Contrôle de la qualité effectué, en 1985, sur les préparations à base de Bacillus thuringiensis I. Recherche de pathogènes et identification de l'espèce insecticide. Gouvernement du Québec, Ministère de l'Énergie et des Ressources, Service des études environnementales, 1986, 44 p.

2. Cabana, J. Contrôle de la qualité effectué, en 1985, sur les préparations à base de Bacillus thuringiensis utilisées lors des pulvérisations aériennes contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette II. Détermination de la potentialité insecticide. Gouvernement du Québec, Ministère de l'Énergie et des Ressources, Service des études environnementales, 1986, 24 p.

Annexe 1 - Numéros des lots reçus pour l'opération 1986

Produit	Numéro de lots
Thuricide 48 LV (1985)	1291
-	1298
-	1310
-	1316
-	1322
-	1327
-	1328
-	1335
-	1341
-	1348
-	1350
-	1353
-	1354
-	1355
-	1356
-	1357
-	1358
-	1359
-	1360
-	1363
-	1371
-	1372
-	1374
-	1375
-	1383
-	5092
-	5101
-	5106
-	50771-R
-	50961-R
-	51042-R
-	51043-R
-	8501
-	8502
-	8503
-	8504
-	8506
-	8507
-	8508
-	8512
-	8517
-	8530
-	Non connu
-	Trans
Futura XLV (1985)	5359
-	5360
-	5363

Université du Québec
Institut Armand-Frappier
531 boulevard des Prairies
C.P. 100 succ. L-D-R
Ville de Laval Québec
Canada H7N 4Z3
Telephone (514) 687-5010

Adresse teleg. Instfrap-Vdl TÉLEX 055-62171 TEL-ECONO MTL

ANNEXE 2

A 0251

LABORATOIRES DE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ
SERVICE D'ANALYSES ET DE CONSULTATION

Ministère de l'Energie et des Ressources
nom de la compagnie ou du producteur

2700, Einstein
adresse ou code budgétaire

Ste-Foy (Québec) / G1P 3W8
ville / code postal

(418)643-9679 / M. Jean Cabana
téléphone / requerant

Insecticide à base de Bacillus thuringiesis
produit

/
no du lot ou code / bon de commande

16 04 86 / 15 éch. / 16 04 86
reçu le / quantité soumise / effectué le

1889
no du test

ANALYSES MICROBIOLOGIQUES — RÉSULTATS

☐	8110	Dénombrement bact. aérobies mésophiles	
☐	8488	Dénombrement *Staph. aureus* coagulase pos.	
☐	8654	Détermination coliformes fécaux, *E. coli*	
☐	8401	Détection + confirmation *Salmonella*	
☐	8838	Dénombrement levures + moisissures	
☐	8922	Identification bactérienne	
☐	8351	Dénombrement bactéries anaérobies	
☐	8768	Dénombrement streptocoques fécaux	
☐	8054	Détermination *Pseudomonas*	
☐	8897	Dénombrement *Lactobacillus*	
☐	8658	Identification levures + moisissures	
☒	8888	Recherche des organismes phatogènes	VOIR ANNEXE

TECHNIQUE EFFECTUÉE PAR: Ginette Denis

REMARQUES:

CONCLUSION: Les échantillons soumis s'avèrent

1986 04 23
date

Gilles Paquette, Ph.D.

I.A.F. 125

REQUÉRANT

Université du Québec
Institut Armand-Frappier
531, boulevard des Prairies
C P 100 succ L-D-R
Ville de Laval, Québec
Canada H7N 4Z3
Téléphone (514) 687-5010

Adresse télég Instfrap-Vdl TÉLEX 055-62171 TEL-ECONO MTL

ANALYSE 1889 ANNEXE 2

PROTOCOLE

Méthode directe:

- Peser 1 g de produit, ajouter à 1 mL d'eau peptonée 0.1% stérile.
- Agitation au vortex, environ 1 minute.
- Ensemencer (bouclée) des milieux énumérés dans le tableau des résultats.
- Incubation 24-48 heures à 37°C.

Méthode indirecte:

- Peser 1 g de produit, ajouter à 9 mL de bouillon de pré-enrichissement (H_2O peptonée 1%).
- Agitation au vortex, environ 1 minute.
- Incubation 24 heures à 37°C.
- Transporter 1 mL de culture de pré-enrichissement dans le bouillon Sélénite et Tétrathionate.
- Incubation 24 heures à 37°C.
- Ensemencer (bouclée) les milieux sélectifs appropriés.
- Incubation 24-48 heures à 37°C.

RESULTATS

Voir le tableau en annexe.

CONCLUSION

Les échantillons no 1 à 15 ne comportent pas de microorganismes pathogènes.

Université du Québec
Institut Armand-Frappier
531, boulevard des Prairies,
C.P. 100, succ. L-D-R
Ville de Laval, Québec
Canada H7N 4Z3
Téléphone (514) 687-5010

Adresse télég. Instfrap-Vdl TELEX 055-62171 TEL-ECONO MTL

ANALYSE 1889

ANNEXE 2

TABLEAU DES RESULTATS

Détection des bactéries pathogènes

Echantillons	Entérobactéries directe	Entérobactéries indirecte	Salmonelles	Staphylocoques	Streptocoques	Clostridiums	Levures Moisissures	Autres
Milieux inoculés	TSA sang EMB McConkey Hektoen XLD Vert Brillant		Hektoen XLD McConkey	Baird Parker Mannitol NaCl Columbia sang + CNA	TSA sang	Columbia sang-anaérobie	Sabouraud	
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-			
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-